Aus dem Institut für Anatomie
der Universität Düsseldorf
Geschäftsführender Leiter:
Prof. Dr. med. H. G. Hartwig
Ehemaliger Leiter:
Prof. em. Dr. med. H. G. Goslar

Über die stadienabhängige Verteilung des Zinkgehaltes im Hoden der Wistarratte und seine Korrelation zum Enzymmuster der α-Glycerophosphat-Dehydrogenase

(Eine histochemische und enzym-histochemische Studie)

DISSERTATION
zur
Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der
Medizinischen Fakultät Düsseldorf

Vorgelegt von
Michael Glaßmeyer

1985

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus dem Institut für Anatomie
der Universität Düsseldorf
Geschäftsführender Leiter:
Prof. Dr. med. H. G. Hartwig
Ehemaliger Leiter:
Prof. em. Dr. med. H. G. Goslar

Über die stadienabhängige Verteilung des Zinkgehaltes im Hoden der Wistarratte und seine Korrelation zum Enzymmuster der α-Glycerophosphat-Dehydrogenase

(Eine histochemische und enzym-histochemische Studie)

DISSERTATION
zur
Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der
Medizinischen Fakultät Düsseldorf

Vorgelegt von
Michael Glaßmeyer

1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0067

MEINEM VATER

IN DANKBARKEIT GEWIDMET

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf.

gez.:

Dekan	: Prof. Dr. Berger
Referent	: Prof. Dr. Goslar
Korreferent	: Prof. Dr. Hilscher

Herrn Prof. Dr. med. H.G. Goslar danke
ich für die Überlassung des Themas, für
die zur Verfügungstellung eines Arbeitsplatzes
und nicht zuletzt für die vielfältigen
wertvollen Anregungen.
Herrn Akad. Oberrat Priv. Doz. Dr. rer. nat.
Passia danke ich für die engagierte Hilfe beim
praktischen Teil der Arbeit und für die
außerordentliche Geduld bei der Durchsicht
und Korrektur des Textes.
Frau B. Hilscher danke ich für die Unterweisung
in die Stadieneinteilung des Samenepithels
Frau G. Berthold und Frau U. Mockenhaupt danke
ich für die Hilfe bei der Präparatherstellung
und für das sorgfältige Lesen der Korrektur.

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung

1. Einleitung
2. Problemstellung

II. Material und Methode

1. Organentnahme
2. Methoden
2.1 PJS-Reaktion ohne und mit Kernfärbung
2.2 α-Glycerophosphatdehydrogenase-Reaktion
2.2.1 Reagentien und Lösungen
2.2.2 Arbeitsgang
2.3 Dithizon-Zink-Reaktion (modifizierte Dithizonmethode)
2.3.1 Allg.Reagentien und Lösungen
2.3.2 Dithizon-Färbelösung
2.3.3 Puffer-Stammlösung
2.3.4 Puffer-Gebrauchslösung
2.3.5 Technische Durchführung der Reaktion
2.3.6 Auswertung

UNIV. LEIDEN BIBL.

III. Befunde

1. Vorbemerkung zur Spermatogenese und ihrer Einteilung und zur Morphologie des Spermatozoons

2. Befundbeschreibung

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Anhang

1. Literaturverzeichnis

2. Abbildungen

EINLEITUNG

Im tierischen Organismus findet sich Zink sowohl in den Parenchym - und Stromazellen vieler Organe als auch in Blut und Lymphe (VALLEE und GIBSON, 1948 a u. b; WOLFF, 1950). Dabei kann es in ionaler und proteingebundener Form auftreten (SCHMIDT und RAUTSCHKE, 1963 a,b, 1964 a,b; PIHL, 1967). In der Literatur liegen bisher umfangreiche histochemische Untersuchungen über das Zink im Zentralnervensystem, u.a. in der Ammonshornformation (FLEISCHHAUER und HORSTMANN, 1957; SANSTEDT et al., 1972; KOZMA und FERKE, 1979), im Magen und Darmtrakt (MIDORIKAWA und EDER, 1962) und in den Augen (SCHMIDT und RAUTSCHKE, 1964 b) vor. Über seine Verteilung in der Prostata und im Pankreas berichteten TIMM und NETH (1958),sowie STAMPFL (1959). Am Rattenpankreas wurde der Zusammenhang zwischen der innersekretorischen Funktion dieses Organs und dem Zink, vor allem beim Diabetes mellitus von zahlreichen Autoren aufgezeigt (WOLFF et al., 1952; MASKE et al., 1952; MAGER et al., 1953; MC NARY, 1954; PETKOV und GALABOVA, 1969).

Die Befunderhebungen wurden an verschiedenen Spezies durchgeführt, u.a. an der Ratte (STAMPFL, 1959; SCHMIDT und RAUTSCHKE, 1964 a; SCHULZ, 1967; PETKOV und GALABOVA, 1969; u.a.), beim Meerschweinchen (MIDORIKAWA und EDER, 1962), bei Katze, Maus, Hund und Frosch (FLEISCHHAUER und HORSTMANN, 1957), seltener beim Menschen (VOIGT, 1959 a u. b; HORSTMANN, 1961; SMITH et al., 1969). Im Gegensatz zu den oben erwähnten Organen gibt es über das Vorkommen, bzw. die Topik des Zinks im Testisgewebe des Menschen und in den menschlichen Spermien bis jetzt nur wenige Informationen. Ähnlich ist die Situation bei den Labornagern. Zwar wird der quantitative Zinkgehalt häufiger im menschlichen Ejakulat bestimmt und gilt auch als Parameter für eventuelle schwermetallbedingte Fertilitätsstörungen (BÖTTGER, 1973); über seine genaue Lokalisation sowie über diejenige einzelner Schwermetalle in den Spermatozoen und im Testisgewebe sind jedoch nur relativ wenige qualitative und quantitative Befunde bekannt (MAWSON und FISCHER, 1953; BIRNBAUM et al., 1961; TIMM und SCHULZ, 1966; SCHULZ, 1967; SCHALLER, 1969; GUNN et al., 1969; WILLIAMS und MILLS, 1970).

Quantitative Aussagen über den Zinkgehalt des Hodens und anderer Organe gelangen SCHMIDT und RAUTSCHKE (1964 b) mit Hilfe chemisch analytischer Verfahren.

Bis 1966 galt der Satz von TIMM: "Angaben über das Vorkommen von Spurenelementen im Hoden sind spärlich. Verteilung und Lage nicht bekannt." (TIMM und SCHULZ, 1966). Erst 1966 führten TIMM und SCHULZ mit dem Sulfid-Silber-Verfahren einen histochemischen Metallnachweis im Testis durch, und sie erstellten damit eine topographische Aussage über die Schwermetallverteilung. Bis zu dieser für die weitere histochemische Forschung wichtigen Arbeit von TIMM und SCHULZ (1966) stand das Eisen im Mittelpunkt der Untersuchungen (SCHULZ, 1967). Nunmehr rückte immer mehr das Zink als wichtiges Schwermetall für die Fertilität in den Blickpunkt. Die Lagebeschreibung u.a. des Zinks, die TIMM und SCHULZ (1966) gaben, wurde mit dem Sulfid-Silber-Verfahren erzielt, welches mit einer Fällung der Proteine einhergeht. Es muß jedoch als relativ unspezifisch angesehen werden, da sämtliche mit H_2S in saurer und alkalischer Lösung ausfällbaren Metalle zur Darstellung kommen (SCHMIDT und RAUTSCHKE, 1964 a und b).

Zur funktionellen Bedeutung des Zinks wiesen MILLAR et al. bereits 1958 darauf hin, daß ein Zinkmangel die Entwicklung juveniler Hoden hemmt und reife Hoden schrumpfen läßt. Während das im periodischen System benachbarte Cadmium das Hodengewebe spezifisch schädigen kann, wird dies durch eine Zinkgabe partiell rückgängig gemacht (PARIZEK, 1957; GUNN et al., 1963, 1968, 1969; FERM und CARPENTER, 1967; FOX und FRY, 1970; GUNN und GOULD, 1975; ECKHERT und HURLEY, 1977; PARZYK et al., 1978).Weiterhin geht aus biochemischen und histochemischen Untersuchungen hervor, daß viele Enzyme zinkabhängig sind; unter anderem die Carboxypeptidase des Pankreas, die Alkoholdehydrogenase der Leber und die Carboanhydrase der Retina, der Erythrozyten, der Magenschleimhaut und anderer Organe (NIEMI und KORMANO, 1964, 1965; MALMSTRÖM und NEILANDS, 1964; LEHMANN und BRANDAU, 1970; MEISSNER et al., 1975). Weitere Untersuchungen belegen, daß Cadmium andere Metalle - auch Zink - von der prosthetischen Gruppe der Enzyme verdrängen und somit die Enzymreaktion behindern kann (VENUGOPAL und LUCKEY, 1975).

Bei biochemischen Untersuchungen des menschlichen Ejakulates spielen neben den vorhin genannten noch andere Enzyme eine wichtige Rolle. So wird regelmäßig die Phosphatase- und Hyaluronidaseaktivität und die Aktivität der akrosomalen Proteasen untersucht (MC CLEAN und ROWLANDS, 1942; VASTERLING, 1960; ELIASSON et al., 1970; SCHIRREN, 1973; SCHIRREN und EWEIS, 1974; LUDVIK, 1976).

PASSIA et al. (1978) und HILSCHER et al. (1978) berichteten eingehend über das stadienabhängige Verhalten einiger Hydrolasen und Oxidoreduktasen im Hoden der Wistarratte. Untersuchungen zur Kinetik der Thiaminpyrophosphatase und sauren Phosphatasen der Ratte und des Menschen zeigten, daß diese Enzyme bei den pachytänen Spermatozyten für den Ablauf der Spermatogenese sowohl bei der Ratte als auch beim Menschen von besonderer Bedeutung sind (PASSIA et al., 1978; HILSCHER et al., 1979; PASSIA,1983).

Bei der Synthese neutraler Lipide und Phospholipide stellt die α-Glycerophosphatdehydrogenase ein wichtiges Enzym dar (KORNBERG und PRICER, 1953; WEISS et al., 1956). Außerdem ist sie an dem Stoffwechsel der Phosphotriosen beteiligt. Diese Prozesse spielen auch eine Rolle für die Spermatogenese und die Spermienmotilität (MIETKIEWSKI und LUKASZYK, 1966). Eine weitere Bedeutung dieses Enzyms wurde von BOXER und SHONK (1960) erarbeitet: Sie führten den Begriff des sogenannten Glycerinphosphat-Shuttle ein.

Beim Glycerinphosphat-Shuttle wird in einer ersten Reaktion Dihydroxyacetonphosphat unter Oxidation von NADH + H^+ zu NAD^+ und Glycerin-3-Phosphat reduziert. Diese Reaktion wird von der Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase katalysiert. Dieses Enzym ist NAD abhängig, die Reaktion findet im Cytosol der Zelle statt. Das entstandene Reaktionsprodukt Glycerin-3-Phosphat wird mittels membranständiger Carriersysteme durch die äußere Mitochondrienmembran transportiert. Nun wird Glycerin-3-Phosphat vom zweiten Typ der Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase, der auf der Oberfläche der Mitochondrienmembran lokalisiert ist, oxidiert. Die intramitochondriale Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase ist kein NAD abhängiges Enzym, sondern ein Flavoprotein. Bei diesem Enzymtyp wird das Flavin reduziert (BOXER und SHONK, 1960).

KORNBERG und PRICER (1953) sowie WEISS et al. (1956) konnten die Teilnahme der α-Glycerophosphatdehydrogenase bei der Synthese neutraler Lipide und Phospholipide nachweisen. Diese Substanzen sind neben einer Reihe anderer nötig, um die Spermien am Leben zu erhalten und ihnen Energie für die Beweglichkeit zu liefern. Neben dieser Rolle des Enzyms α-Glycerophosphatdehydrogenase für den Ablauf der Spermiogenese und der Spermienentwicklung kann es auch dazu benutzt werden, die Stadien der Spermatogenese zu differenzieren (PASSIA et al., 1978). Im Samenepithel ist die zweite intramitochondriale Oxidationsreaktion entscheidend (MIETKIEWSKI und LUKASZYK, 1966). Diese Autoren wiesen darauf

hin, das " daß Reaktionsmuster der α - Glycerophosphatdehydrogenaseaktivität in den einzelnen Kanälchenabschnitten die zyklische Funktion (d.h. der Spermatogenese) in Erscheinung bringt und die Definition zuläßt, in welcher Spermiogenesephase sich die Zelle(n) des Samenepithels befindet(n)" (MIETKIEWSKI und LUKASZYK, S. 36, 1966).

PROBLEMSTELLUNG

In der Einleitung wurde auf die Rolle des Zinks als Co-Faktor für viele enzymatische Reaktionen und auf seine protektive Funktion bei Cadmiumvergiftungen hingewiesen (MAEKAWA et al., 1965; BRUNN und MASTRONE, 1966; PRASAD et al., 1971). Auch GUNN et al. (1961, 1963) unterstreichen die essentielle Rolle dieses Spurenelements für den normalen Ablauf der Hodenfunktion. Ebenso konnte die Bedeutung der intramitochondrialen α-Glycerophosphatdehydrogenase aufgezeigt werden, deren nutritive Funktion auch für den Hoden unbestritten ist (MANN, 1954; MIETKIEWSKI und LUKASZYK, 1966).

Es ist daher von Interesse zu überprüfen, ob zwischen dem "essentiellen" Schwermetall Zink und dem "essentiellen" Enzym α-Glycerophosphatdehydrogenase Korrelationen bestehen. Was durch die Tatsache, daß fast alle Flavoproteine zinkabhängig sind noch wahrscheinlicher wird (PEARSE, 1972).

Ziel der Arbeit ist es:

I. Die genaue Lokalisation von Zink im Hoden darzustellen und zu überprüfen, ob

zwischen den einzelnen Stadien der Spermatogenese und der Zinkverteilung Zusammenhänge bestehen.

II. Ein etwaiges Abhängigkeitsverhältnis zwischen dem Flavoprotein α-Glycerophosphatdehydrogenase und dem Zink aufzuzeigen.

MATERIAL UND METHODE

1. Organentnahme und Materialbearbeitung

Als Versuchsorgane dienten Hoden von 30, durchschnittlich 200 g schweren Wistarratten. Die Tiere wurden mit Äther narkotisiert, durch Dekapitation getötet, die Organe sofort entnommen und in flüssigem Stickstoff bei ca. - 190°C schockgefroren. Die Aufbewahrung erfolgte bei - 70°C in einem Dewargefäß in der Tiefkühltruhe. Von den Hoden wurden spätestens nach 24 Stunden bei - 17°C ca. 16 µm dicke Kryostatschnitte angefertigt, wobei darauf geachtet wurde, daß eine Serie von Folgeschnitten vorlag. Alle aufgeführten Reaktionen wurden am nativen Kryostatschnitt durchgeführt. Am ersten Schnitt der jeweiligen Serie wurde die Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PJS-Reaktion) durchgeführt, der zweite Schnitt diente zur Darstellung der α-Glycerophosphatdehydrogenase. Am dritten Schnitt schließlich erfolgte der Zinknachweis mit einer modifizierten Dithizonmethode.

2. Methoden

2.1 PJS-Reaktion

Die PJS-Reaktion wurde nach MC MANUS durchgeführt (siehe ROMEIS 1968). Zur Differenzierung der verschiedenen Geschlechtszelltypen wurde im Anschluß an die PJS-Reaktion eine Kernfärbung mit Haemalaun nach MAYER (siehe ROMEIS, 1968) durchgeführt.

2.2 α-Glycerophosphatdehydrogenase-Reaktion

(nach PEARSE, 1972)

2.2.1 Reagentien und Lösungen*

a) Tetranitroblautetrazoliumchlorid (M 907,7)	2,5 ml
b) 0,2 M Trispuffer pH 7,4	2,5 ml
c) 0,05 M $MgCl_2$	1,0 ml
d) Aqua dest.	3,0 ml
e) 0,1 M NaCN	1,0 ml
f) 20% Polyvinylalkohol	1,5 ml
g) 1 M Glycerin-1-phosphat Dinatriumsalz (MG 324,13)	0,1 ml
	11,6 ml

* Die Reagentien werden von den Firmen Merck, Darmstadt Serva, Heidelberg, Wacker - Chemie, München bezogen.

Diese Lösungen werden in der angegebenen Reihenfolge zusammengefügt, gut gemischt, der pH-Wert auf 7,2 bis 7,4 eingestellt und anschließend filtriert.

2.2.2 Arbeitsgang des Enzymnachweises

Die tiefgefrorenen Kryostatschnitte werden für 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet. Die Inkubationslösung wird luftblasenfrei auf die unfixierten Schnitte aufgetropft, die vollständig bedeckt sein müssen. Sie werden in einer feuchten Kammer bei + 37°C für 50 Min. inkubiert. Danach wird das Inkubationsmedium abgeschleudert und die Schnitte in Aqua dest. gespült. Anschließend erfolgt eine Fixierung für 5 Min. in 4% gepuffertem Formalin bei + 4°C. Nach Waschen in Leitungswasser und Spülen in Aqua dest. wird mit Glycerin-Gelatine eingedeckt.

2.3 Modifizierte Dithizon-Methode[1]

2.3.1 Reagentien und Lösungen

a) 0,1 M Cacodylat-Puffer (pH 7,3)

b) 1 N Essigsäure

c) konz. Ammoniaklösung

d) Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung, 20%
(mit Aqua dest.* zubereiten)

e) 4% Paraformaldehyd

f) Diphenylthiocarbazon (Dithizon)

2.3.2 Dithizon-Färbe-Lösung (mod. nach YOSHINAGA, 1974)

150 mg Dithizon werden in 0,5 ml konz. Ammoniaklösung gebracht; 5 Min. später erfolgt die Zugabe von 4,5 ml Aqua dest.*.

[1] Zur Zinkdarstellung wurde eine modifizierte, für Zink selektive Dithizon-Methode benutzt. Die Grundlagen dieser Methode sind in den Arbeiten von KRUCZYNSKI et al. (1984) und KRUCZYNSKI (1985) beschrieben.

[*] Alle Reagentien und Lösungen wurden nur mit zinkfreiem Aqua dest. zubereitet. Um eine Kontamination mit Schwermetallionen zu vermeiden, sind alle methodentechnischen Maßnahmen durchgeführt worden, die in der oben genannten Arbeit aufgeführt worden sind. Das zinkfreie Aqua dest. wird nachfolgend mit Aqua dest.* bezeichnet.

Die Lösung wird 10 Min. im Wasserbad (bei + 70°C) gerührt und anschließend filtriert. 0,5 ml des Filtrates fügt man 50 ml 0,1 M Cacodylat-Puffer zu. Die Lösung darf nur verwendet werden, wenn sie völlig klar ist.
Zu 16 ml Dithizon-Färbe-Lösung werden 4 ml 4% Paraformaldehyd gegeben. Das End-pH soll 7,3 betragen. Die orangegelbe Lösung darf nur frisch verwendet werden.

2.3.3 Pufferstammlösung

55 g Natriumthiosulfat x 5 H_2O
9 g Natriumacetat x 3 H_2O
1 g Kaliumcyanid
werden in 100 ml Aqua dest.* gelöst, das pH mit 1 N Essigsäure auf 5,5 eingestellt und auf 200 ml mit Aqua dest.* aufgefüllt. Kleine Portionen (ca. 30 ml) dieser Lösung werden in einem Schütteltrichter mit gleichen Teilen eines Gemisches von Dithizonlösung (0,01%) und CCl_4 (0,01%) kräftig geschüttelt.

Das Ausschütteln dient der Extraktion etwaiger kleinerer Zinkverunreinigungen. Die Extraktion muß so lange durchgeführt werden, bis das Dithizon-CCl_4-Gemisch klar grün bleibt. Während des Extraktionsvorganges bilden sich zwei Phasen; davon wird die obere für den weiteren Arbeitsgang benötigt.

2.3.4 Pufferlösung

5,8 ml Pufferstammlösung und 0,2 ml 20% Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung werden mit 42 ml Aqua dest.* gemischt und der pH-Wert kontrolliert. Falls der pH-Wert von 5,5 abweicht, wird er mit 1 N Essigsäure eingestellt.

2.3.5 Anwendung

Die ca. 16 µm dicken nativen Kryostatschnitte werden mit der unter 2.3.2 beschriebenen Lösung für 10 bis 60 Sek. bei Raumtemperatur bedeckt. Danach wird mit 2 Portionen Aqua dest.* gespült und die Schnitte für 2 bis 3 Min. in die

Pufferlösung (2.3.4) eingestellt. Nach erneutem Spülen in Aqua dest.* erfolgt das Eindecken mit Glycerin-Gelatine.

2.3.6 Auswertungshinweis

Die Präparate sollten wegen der Instabilität der Dithizonate innerhalb der ersten 30 Min. ausgewertet und fotografiert werden (SCHMIDT und RAUTSCHKE, 1963 b, c).

BEFUNDE

1. Bemerkungen zum Aufbau des Samenepithels und zur Stadieneinteilung der Spermatogenese bei der Ratte

Das Samenepithel der Säugetiere setzt sich aus mehreren aufeinanderfolgenden konzentrisch angeordneten Zellschichten zusammen. So zeigt z.B. der Querschnitt eines Samenkanälchens bei der Ratte in Stadium IX folgende, aus synchronen Keimzellen zusammengesetzte Keimzellschichten: A-Spermatogonien, leptotäne I-Spermatozyten, pachytäne I-Spermatozyten, ovale, in Elongation begriffene Spermatiden sowie Spermatozoen in den oberen, an das Kanälchenlumen grenzenden Abschnitten des Sertolizellcytoplasmas und in der Kanälchenlichtung.
Neben dieser horizontalen Anordnung der aufeinanderfolgenden Zellschichten zeigt das Samenepithel aber auch eine vertikale, von der Basalmembran zur Kanälchenlichtung hin orientierte Gliederung in Form von Zellassoziationen. Eine Zellassoziation ist ein Gewebsverband, der dadurch gekennzeichnet ist, daß die Entwicklungsphasen, in denen sich die Geschlechtszellen befinden, genau aufeinander abgestimmt sind.
Das Samenepithel der Ratte setzt sich aus 4 bzw.5 Schichten von Geschlechtszellen - undifferenzierten und differenzierten Spermatogonien, unreifen (postmitotischen, präleptotänen, leptotänen und zygotänen) und reifen (pachytänen, diplotänen und diakinetischen) Spermatozyten, runden Spermatiden und elongierten Spermatiden zusammen. Die in den verschiedenen Zellschichten gelegenen Geschlechtszellen befinden sich jeweils in einer ganz bestimmten Entwicklungsphase. In der Vertikalen sind sie so miteinander assoziiert, daß sie nur in dieser einen Kombination vorkommen, so daß sie ein in den Samenkanälchen immer wieder auf-

tretendes, stets gleich bleibendes Phasenmuster der Geschlechtszellen bilden. LEBLOND und CLERMONT (1953) haben bei der Ratte mit Hilfe dieser verschiedenen Zellassoziationen die Spermatogenese in 14 Stadien unterteilt, die z.T. noch in Unterstadien gegliedert werden.
Die Stadieneinteilung basiert auf dem Verhalten des Akrosoms der Spermatiden; das Akrosom läßt sich speziell mit der PJS-Reaktion darstellen (LEBLOND und CLERMONT, 1953; CLERMONT, 1963, 1966, 1972; CLERMONT und BUSTOS-OBREGON, 1968).
LEBLOND und CLERMONT (1953) unterteilen in:
Die Phase 1, die Golgiphase, in der das akrosomale Granula gebildet wird, diese Phase beinhaltet die Stadien I bis III. Die Phase 2, die Kappenphase, in der unter anderem die Kopfkappe am vorderen Kernpol entsteht, umfasst die Stadien IV bis VII. Die Phase 3, die akrosomale Phase, die zur Ausbildung der Mitochondrien führt, umschließt die Stadien VIII bis XIV. Schließlich umschreibt die 4. Phase, die Reifungsphase, in der die Bildung des Flagellums abgeschlossen wird, die Stadien I bis XIV (CLERMONT, 1963; BARGMANN, 1967; HILSCHER und HILSCHER, 1969, 1972 a und b; HILSCHER 1974; HOLSTEIN und ROOSEN-RUNGE 1981).
Als Stammzellen der Spermatogenese werden die einzeln vorkommenden, langlebigen A_s-Spermatogonien angesehen, aus denen nach mehreren Zellteilungen die 6 hintereinander geschalteten Spermatogonientypen A_1, A_2, A_3, A_4, I_M und B hervorgehen (HUCKINS, 1971; HILSCHER und HILSCHER, 1972; HILSCHER, 1974). Die B-Spermatogonien werden durch Mitose zu Spermatozyten 1. Ordnung. Die Spermatozyten 1. Ordnung lassen sich in präleptotäne, leptotäne, zygotäne, pachytäne, diplotäne und diakinetische Spermatozyten unterteilen. Aus den Spermatozyten 1. Ordnung gehen durch Zellteilung (1. Reifeteilung) die Spermatozyten 2. Ordnung hervor. Nach einer weiteren Zellteilung (2. Reifeteilung) sind aus den Spermatozyten 2. Ordnung die Spermatiden entstanden. Die Spermatiden unterteilen

sich in die a, b_1 und b_2 Spermatiden, aus denen dann die c und d Spermatiden entstehen. Aus den Spermatiden der Gruppe d differenziert sich das reife Spermatozoon (HILSCHER, 1974; PASSIA et al., 1982).

2. Befundbeschreibung

In Stadium I und II zeigt das Enzymbild der - Glycerophosphatdehydrogenase eine mäßige Ansammlung von feinen Formazangranula in den Spermienköpfen, im Bereich der Mittelstücke sowie in den Schwanzbereichen der elongierten Spermatiden (Abb. 1). Das Zinkbild korreliert in seiner Verteilung mit dem Enzymbild; man erkennt auch hier eine positive Dithizon-Reaktion in den Köpfen der Spermatiden, in den Mittelstücken und den Schwanzbereichen (Abb. 2). Die Köpfe, die in das Cytoplasma der Sertolizelle eintauchen, weisen ebenfalls sowohl eine positive Enzym- als auch Zinkreaktion auf. Formazan- wie auch Dithizon- Zinkgranula sind im adluminalen Tubulusanteil lokalisiert.

In Stadium III (Abb. 3) und IV erscheint eine mäßige Enzymaktivität in den Köpfen und den Mittelstücken der elongierten Spermatiden. Das Zinkbild (Abb. 4) deckt sich mit der Lage der Formazangranula. Die

Spermatiden sind in diesen Stadien bis zum adluminalen Tubulusanteil in das Cytoplasma der Sertolizelle eingetaucht. Die cytoplasmatischen Auftreibungen (Vorläufer der Residual bodies)[2] enthalten starke Enzymaktivität und kräftig rot tingierte Dithizon-Zinkgranula.

Im Stadium V zeigt sich im Vergleich zu den vorhergehenden Stadien im Enzym- und Zinkbild (Abb. 5 und 6) eine stärkere Reaktion in den Köpfen, in den Mittelstücken und in den Anfangsteilen des Flagellums der eingetauchten Spermien. Außerdem findet sich im Vergleich zum Stadium IV eine deutliche Zunahme der cytoplasmatischen Auftreibungen, die sowohl nach der Enzym- als auch nach der Zinkreaktion verschieden große, homogene Granula enthalten.

[2] Residual bodies sind einzelne Zellfragmente, die nicht mit den Spermien aus den Sertolizellen freigesetzt, sondern später von diesen verdaut werden. Ihnen wird auch eine Carrierfunktion zugeschrieben (LACY, 1962). Der Begriff "cytoplasmatische Auftreibung", der die Vorläufer der Residual bodies beschreibt, wurde von MIETKIEWSKI und LUKASZYK (1966) in die Literatur eingeführt.

Im Stadium VI ist an den Köpfen sowohl bei der enzym- (Abb. 7) als auch bei der metallhistochemischen Reaktion (Abb. 8) keine Farbmarkierung zu sehen. Lediglich die Mittelstücke der Spermatozoen, die sich im adluminalen Tubulusanteil befinden, zeigen eine stark aktive Enzym- und Zinkreaktion. Im Vergleich zu Stadium V fällt eine deutliche Größenzunahme der cytoplasmatischen Auftreibung ins Auge. Diese stellen sich bei der Enzymreaktion und auch bei der Zinkreaktion stark positiv dar.

Die Befunde im Stadium VII (Abb. 9 und 10) entsprechen im wesentlichen jenen des Stadiums VI. Die jetzt auftretenden freien Residual bodies im adluminalen Tubulusanteil weisen eine starke Enzym- und Zinkreaktion auf. Sie imponieren besonders im Zinkbild als homogene, purpurrot gefärbte Granula.

Nach Freisetzung der Spermien im Stadium VIII ist in den einzelnen verbliebenen Spermatozoen eine positive Enzym- und Zinkreaktion in den Mittelstücken und in den Köpfen zu beobachten.

Die Befunde der Stadien VIII und IX können am besten am Stadium IX (Abb. 11 und 12) demonstriert werden. Die Enzym- wie auch die Zinkreaktion ist jetzt vorwiegend im adluminalen Sertolizellanteil zu beobachten. Auffallend ist ein Unterschied in der Ausprägung der Reaktionen; die Enzymreaktion fällt relativ stärker aus als diejenige des Zinks. Bei der Betrachtung der Stadien VIII und IX erkennt man weiterhin, daß die enzym- und zinkpositiven Residual bodies successive aus der Richtung des adluminalen Sertolizellanteils zum basalen Bereich hinunterwandern.

In den Stadien X und XI kann ein positiver Enzymbefund nur im adluminalen Sertolizellbereich erhoben werden (Abb. 13). Die Formazangranula liegen diffus in den aufgelockerten Strukturen dieses Tubulusanteiles.
Das Zinkbild (Abb. 14) zeigt weder im adluminalen noch im basalen Bereich eine positive Reaktion. Deutlich positive Dithizon-Zinkgranula sind dagegen in der Lamina propria zu erkennen.

Die Stadien XII und XIII zeigen im Cytoplasma der elongierten Spermatiden eine schwache Enzymaktivität (Abb. 15). Die Formazangranula sind dabei nicht eindeutig dem Kopf- oder Schwanzbereich zuzuordnen. Eine positive Dithizon-Zink-Reaktion (Abb. 16) findet sich auch in diesen Stadien nur in der Lamina propria. Sie ist aber im Vergleich zum Stadium XI schwächer ausgebildet und weist nur vereinzelte purpurrote Granula auf.

Im Stadium XIV tritt eine deutliche Aktivitätssteigerung des Enzyms hervor (Abb. 17), was besonders im Vergleich zu den beiden vorausgehenden Stadien deutlich wird. Mittelstücke und die Übergänge zu den Flagella zeigen eine mäßige Reaktion, nur die Köpfe bleiben negativ.
Die Zinkreaktion (Abb. 18) fällt dagegen überall negativ aus.

DISKUSSION

LEBLOND und CLERMONT beschrieben im Jahr 1953 an Hand des Verhaltens PJS-positiver Substanzen 14 Stadien der Spermatogenese bei der Ratte. Andere Autoren konnten nachweisen, daß auch die Enzyme ein stadienabhängiges Verhalten aufweisen (MIETKIEWSKI und LUKASZYK, 1966; KIMMING et al., 1967; PARVINEN und VANHA-PERTTULA, 1972; PASSIA et al., 1978; HILSCHER et al., 1979; PASSIA, 1983).

Die Untersuchungen von AMBADKAR und GEORGE (1964) über die Lipaseaktivität, die Malat - und Lactatdehydrogenase wiesen als eine der ersten Arbeitsgruppen auf etwaige Korrelation zwischen Enzymen und dem Ablauf der Spermatogenese am Rattenhoden hin. Auch die Thiaminpyrophosphatase, die sauren Phosphatasen, die Ca^{++}- Adenosintriphosphatase, die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase und die ß-Hydroxybuttersäuredehydrogenase zeigen im Hoden der Ratte während unterschiedlicher Reifestadien ein spezifisches Enzymmuster (PASSIA et al., 1978; HILSCHER et al., 1979).

Daraus folgt, daß die Enzymhisto- und Enzymzytoarchitektur des Interstitiums und der Geschlechtszellen während der Spermatogenese charakteristischen Veränderungen unterworfen ist (HILSCHER et al., 1979). Ein weiteres Enzym, das sich in seiner Verhaltensweise definierten Stadien der Spermatogenese zuordnen läßt, ist die α-Glycerophosphatdehydrogenase, wie die Ergebnisse von MIETKIEWSKI und LUKASZYK (1966), von PASSIA et al. (1978) und die vorliegenden Untersuchungen zeigen. Weiterhin besteht eine Korrelation zwischen dem Enzymbild der α-Glycerophosphatdehydrogenase und dem Verteilungsmuster des Zinks, wie in der Befunderhebung ausgeführt wurde. Obwohl die Zinklokalisation bislang nicht präzise geklärt werden konnte, wurde die essentielle Rolle des Zinks für die Spermatogenese bereits in früheren Arbeiten herausgestellt (GUNN et al., 1961, 1963, 1968, 1969; TIMM und SCHULZ, 1966; KIMMING et al., 1967; BÖTTGER, 1973). Zwar konnten TIMM und SCHULZ (1966) einigen Stadien der Spermatogenese der Ratte auch eine bestimmte Zinklokalisation zuordnen, ein direkter Zusammenhang

zwischen einzelnen Entwicklungsstufen und der Zinklokalisation konnte jedoch nicht hergestellt werden. Erst die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stellen durch die Anwendung der modifizierten Dithizonmethode eindeutig das stadienabhängige Verteilungsmuster des Zinks für alle 14 Stadien her.

Die Korrelation zwischen dem Spermatogenese-Zyklus und der Verteilung der α-Glycerophosphatdehydrogenase läßt sich folgendermaßen beschreiben: Nur in den Stadien I bis V finden sich - mit zunehmender Aktivität - Formazangranula sowohl in den Spermatidenköpfen als auch im Flagellumbereich, in allen anderen Stadien kann hier keine Aktivität nachgewiesen werden. Die Mittelstücke sind hingegen in den Stadien I bis VIII positiv. Nach Freisetzung der Spermien in Stadium VIII können die Formazangranula bestimmten Abschnitten nicht mehr zugeordnet werden. Das Enzym erscheint ferner in den Stadien X bis XIV im Sertolizellcytoplasma des adluminalen Tubulusbereiches diffus verteilt. Diese Befunde decken sich mit jenen von MIETKIEWSKI und LUKASZYK (1966) und PASSIA et al. (1978).

Ein wichtiger Befund ist die Verlagerung der Enzymaktivität vom adluminalen zum basalen Sertolizellbereich in den Stadien VIII bis X. Die "Residual bodies" und ihre Vorläufer, die cytoplasmatischen Auftreibungen, fallen dabei durch eine deutliche Tingierung auf. Dieser Befund ist deshalb so wichtig, da KRUCZYNSKI et al. (1985) einen Zinktransport durch die "Residual bodies" aufzeigen konnten.

Nach MIETKIEWSKI und LUKASZYK (1966) soll in der ersten Phase der Spermatogenese eine "herdweise Entwicklung" der α-Glycerophosphatdehydrogenase enthaltenden Mitochondrien erfolgen, oder innerhalb der schon bestehenden Mitochondrien eine Neusynthese dieses Enzyms ablaufen. Die eigenen Befunde scheinen diese Ergebnisse zu unterstützen. Nach Freisetzung der Spermien findet sich eine Enzymreaktion nur noch im Sertolizellcytoplasma. Parallel zum Reifungsprzeß der neuen Spermatidengeneration steigt in derselben auch die Enzymaktivität an. Die Befunde zeigen, daß die Aktivität in den Spermatiden in den Stadien XII und XIII schwach, in den Stadien XIV bis IV mäßig, in den Stadien V bis VIII

jedoch stark auftritt. Außerdem ist in den Stadien I bis VIII die Enzymaktivität hauptsächlich in den mitochondrienreichen Spermienmittelstücken zu beobachten; dieser Befund wird von MIETKIEWSKI und LUKASZYK (1966) auch elektronenmikroskopisch bestätigt. Bekanntlich besteht die Hauptaufgabe der mitochondrienreichen Mittelstücke darin, die Energie für die Spermatiden allgemein und für die Motilität der Spermien im besonderen zu liefern. Als ein weiterer Indikator dafür dürfte die α-Glycerophosphatdehydrogenase anzusehen sein, die für wichtige Stoffwechselschritte, z.B. die Synthese neutraler Lipide und Phospholipide notwendig ist (GEORGE und AMBADKAR, 1963; AMBADKAR und GEORGE, 1964).

Zusammenfassend ist die α-Glycerophosphatdehydrogenase im Hodengewebe durch drei Eigenschaften charakterisiert:

1. Ausschließlich intramitochondriale Lokalisation mit polwärts gerichteter Reaktionsverschiebung im Sinne der Mitochondrienwanderung (elektronenmikroskopisch durch MIETKIEWSKI und LUKASZYK (1966) bestätigt).

2. Stadienabhängige Lage und ebenfalls stadienabhängige Aktivitätsverteilung.

3. Essentielle Funktion für die Stoffwechselleistung in den Spermatozoen.

Verschiedene Autoren beschreiben eine Interaktion zwischen Metallen und Enzymen, wobei den Metallen VENUGOPAL und LUCKEY,1975; VALLEE, 1976; SUMI et al., 1979). Nach PEARSE (1972) sind viele Flavoproteine PARISI und VALLEE, 1969; LEHMANN und BRANDAU, 1970; GUNN und GOULD, 1970; MEISSNER et al., 1975; VENUGOPAL und LUCKEY, 1975; VALLEE, 1976). Nach PEARSE (1972) sind viele Flavoproteine zink- zinkabhängig. Die mitochondriale α-Glycerophosphatdehydrogenase ist ein solches Flavoprotein, so daß auch dieses Enzym Zink als Co-Faktor benötigen dürfte. So könnte die Verteilung des Zinks weitere Aufschlüsse über die Funktion dieses Metalls für die α-Glycerophosphatdehydrogenase geben. Wie in den Befunden dieser Arbeit bereits ausgeführt wurde, besteht in den meisten Stadien eine Korrelation zwischen der α-Glycerophosphatdehydrogenase und dem Auftreten der Zink-Dithizon-Granula. In den Stadien

I bis X stimmt die Zinkverteilung mit der Lage der Formazangranula überein. Die gleichgerichtete Wanderung sowohl der Zink-Dithizon-Komplexe als auch der Formazangranula vom adluminalen zum basalen Sertolizellanteil in den Stadien VIII bis X wurde bereits im Befundteil beschrieben. In den Stadien I bis V ist - wie bei der α-Glycerophosphatdehydrogenase - eine Zunahme der Zink-Dithizon-Granula zu beobachten. Die Dithizongranula sind in den Stadien I bis VIII im mitochondrienreichen Mittelstück lokalisiert; dieser Befund ist identisch mit der Enzymverteilung. Es muß jedoch betont werden, daß die Zinklokalisation nicht in a l l e n Entwicklungsschritten übereinstimmen. So findet sich z.B. in den Stadien XI bis XIV immer eine positive Dithizon-Zink-Reaktion in der Lamina propria, während im adluminalen und basalen Sertolizellanteil keine Reaktion zu beobachten ist. Erst in den Stadien XIV und I (Abb. 19) treten schwach aktive, diffus verteilte Dithizongranula im basalen Sertolizellabschnitt auf. In der Lamina propria wird jedoch auch in diesen Stadien Zink nachgewiesen.
Ein weiterer entscheidender Befund sind die Verteilung und das Verhalten

des Zinks in den Spermatiden. Bekanntlich beginnen im Stadium I die Spermatiden auf das Kanälchenlumen zuzuwandern; im Stadium VII verlieren sie den Kontakt zur Sertolizelle und werden im Stadium VIII (Abb. 20) in das Tubuluslumen abgegeben (CLERMONT, 1963; HILSCHER, 1974). Das Zink macht diese Wanderung mit. Es befindet sich während dieser Stadien in den Spermatidenmittelstücken und ist auch in den Vorläufern der "Residual bodies" - den cytoplasmatischen Auftreibungen - nachweisbar. Nach der Spermienfreisetzung tritt dieses Metall nur noch in den Residual bodies, also in den, nach der Spermienbildung übriggebliebenen Zellbruchstücken, auf.

Zusammenfassend kann das Verhalten des Zinks im Hoden ebenfalls durch drei Charakteristika beschrieben werden:

1. Stark bevorzugte Lage des ionalen Zinks im mitochondrienreichen Mittelstück der Spermatiden.

2. Stadienabhängige Lage des Zinks, die den zyklischen Veränderungen des Samenepithels entspricht. Auch eine Intensitätszunahme kann in einzelnen Stadien beobachtet werden.

3. Essentielle Bedeutung für einen physiologischen Ablauf der Spermatogenese im Hodengewebe, das heißt für eine normale Entwicklung der Spermatozoen (GUNN et al., 1961, 1963; CLEGG und CARR, 1967; CHERNHOFF, 1973; MUTCH und HURLEY, 1974; HSU und ANTONY, 1975; KRUCZYNSKI, 1984; KRUCZYNSKI et al., 1985).

Die Beziehung zwischen dem Verhalten des Zinks und der α-Glycerophosphatdehydrogenase führen zu folgenden weiteren Diskussionspunkten:

1. Läßt sich aus dem stadienabhängigen Verteilungsmuster eine Aussage über die Funktion des Zinks für die Spermien ableiten?
2. Erlaubt die Übereinstimmung der Lokalisation in den Stadien I bis X eine Hypothese über eine direkte Interaktion zwischen Enzym und Zink?
3. Gibt es Erklärungsmöglichkeiten für die unterschiedliche Lokalisation von Enzym und Zink in den Stadien XI bis XIV?

In der Literatur werden zwei Auffassungen über die Rolle des Zinks im Hoden diskutiert. So sind einige Autoren der Meinung, daß dem Zink die Rolle eines Co-Enzyms zugewiesen werden muß, wie Untersuchungen über Cadmiumvergiftungen und dem dabei nachgewiesenen Zinkverdrängungsmecha-

nismus aufzeigen. (PARIZEK und ZOGHAR, 1956; MEEK, 1959; MAEKAWA et al., 1965; TIMM und SCHULZ, 1966). Die letztgenannten Autoren fanden an mit Cadmium begifteten Ratten eine Anlagerung dieses Metalles an Strukturen, in denen sie vorher Zink nachgewiesen hatten. VENUGOPAL und LUCKEY (1975) sprachen von einem "k o m p e t i t i v e n A u s - t a u s c h m e c h a n i s m u s" und postulierten damit die Verdrängung des Zinks durch Cadmium an Metall-Enzym-Komplexen. Andere Autoren vertreten die Meinung, daß das Cadmium zunächst eine Wirkung auf die testikulären Blutgefäße ausübt. Durch den ausgelösten massiven Gefäßschaden, z.B. Wandödeme oder Wandhaemorrhagien, sollen dann Folgeschäden für das Keimepithel entstehen (WAITES und SETCHELL, 1966; CLEGG und CARR, 1967; GUNN und GOULD, 1970; AOKI und HOFFER, 1978). Das in den eigenen Befunden erstmals nachgewiesene stadienabhängige Zinkverteilungsmuster und die topographische Korrelation zwischen dem Zink und der α-Glycerophosphatdehydrogenase dürften die Wirkung des Zinks als Co-Enzym unterstreichen.

Das Zink, das an Metalloproteine[4] gebunden ist, wird durch das Dithizon nicht erfaßt, da die Bindungskonstante zum Protein zu groß bzw. die Affinität des Zinks zum Dithizon zu gering ist (IWANTSCHEFF, 1958).

Die interessante Tatsache, daß bei hoher Aktivität der α-Glycerophosphatdehydrogenase auch ein besonders intensiver Zinknachweis erhoben werden kann, läßt sich mit dem in diesen Stadien ionalen Vorliegen des Zinks erklären. Die Dithizon-Reaktion fällt dann besonders deutlich aus. Man könnte vermuten, Zink wird vermehrt in die Sertolizelle eingeschleust, um dem Enzym in seiner aktivsten Phase reichlich zur Verfügung zu stehen. Das Zink könnte dabei an die prosthetische Gruppe des Apoenzyms gebunden werden. Nach abgelaufener Reaktion liegt das Zink dann wieder ional vor und wird als purpurroter Farbstoffkomplex nachgewiesen. Ein Teil des

(4 Metalloproteine sind Eiweißkomplexe, bei denen das Metall fest koordinativ gebunden vorliegt im Gegensatz zu solchen Komplexen, in denen eine reversible Metallverbindung besteht (PEARSE, 1972).

Zinks verläßt dabei den adluminalen Sertolizellanteil mit den Spermien, der andere Teil kehrt mit den "Residual bodies" in den basalen Sertolizellanteil zurück. Die Interaktion des Zinks, das auch an andere Metalloproteine gebunden sein könnte, und evtl. durch die Fällung mit der Silber-Sulfid-Methode freigesetzt wird, muß noch geklärt werden. Im menschlichen Körper ist eine Interaktion mit anderen Enzymen bereits bekannt, z.B. bei der in vielen Geweben vorkommenden Carboanhydrase. Bei diesem Enzym ist die Rolle des Zinks als Co-Faktor eindeutig nachgewiesen (VALLEE, 1959, 1976). Andere Biokatalysatoren, wie z.B. die ß-Hydroxy-buttersäuredehydrogenase, die Malatdehydrogenase und die Lactatdehydrogenase, die ebenfalls ein charakteristisches Aktivitätsmuster im Hoden aufweisen (GEORGE und AMBADKAR, 1963; AMBADKAR und GEORGE, 1964), können z.B. auch eine Interaktion mit Zink eingehen.

Diese Befunde zeigen, daß die Funktion des Zinks im Hoden viel weitgehender ist als bisher an-

genommen wurde. So kann die Korrelation zwischen Zink- und Enzymverteilung durch gemeinsames Vorkommen in den Mitochondrien und in den "Residual bodies" als Co-Enzymfunktion angesehen werden (PEARSE, 1972; WEBB, 1972). Weitere Hinweise für diese Funktion geben die Begiftungen mit Cadmium und die anschließende Enzymblockierung durch dieses Schwermetall.

Das Auftreten des Zinks in den "Residual bodies" gibt weitere Hinweise auf deren Transportfunktion. DORRINGTON und ARMSTRONG (1975)haben eine solche für Phospholipide und Steroide nachgewiesen. Im Stadium VIII, in dem die Spermien freigesetzt werden, ist Zink in den "Residual bodies" vorhanden, die sich im adluminalen Sertolizellanteil befinden. Während der Stadien IX und X wandern die "Residual bodies" in den basalen Sertolizellanteil. In den Stadien XI und XII ist das Zink dann in der Lamina propria nachzuweisen. LACY (1962) wies eine Verdauung der "Residual bodies" nach; dabei wird

deren Material für den nächsten Spermatogenesezyklus freigestzt. Eine solche Freisetzung wird in der vorliegenden Arbeit für Zink nachgewiesen. Ein ähnlicher Transportmechanismus wird auch von KRUCZYNSKI et al. (1985) angenommen; er spielt eine wesentliche Rolle für das "ZINC-RECYCLING", das diese Autoren diskutieren. Die essentielle Bedeutung des Zinks für die Spermienreifung bzw. die Co-Enzymfunktion bei der α-Glycerophosphatdehydrogenase wurde bereits erwähnt; ebenso der Einbau des Zinks in das Mittelstück der Spermatozoen. Eine Voraussetzung hierzu ist ein Ersatz des Zinks für den neuen Spermatogenesezyklus. Durch den Spermatozoenaustritt ist eine physiologische "Zinkmangelsituation" eingetreten, die allein durch das "Recycling" nicht voll kompensiert werden kann. Zusätzlich muß deshalb eine Neuzufuhr des Zinks über das Gefäßsystem gefordert werden. VALLEE und GIBSON (1948 a und b) konnten bereits Zink im Blutplasma nachweisen. Dieses Zink könnte an die Lamina propria abgegeben werden, wo es dann

in den Stadien XI bis I zu finden ist. Sie würde damit die Funktion eines "VORRATSPOOL" für die beiden Zinkfraktionen übernehmen. Der vollständige Zinkkreislauf vollzöge sich somit in drei Schritten:

1. Das Zink übt seine Co-Enzymfunktion zur Aktivierung der α-Glycerophosphatdehydrogenase während der Spermatogenese aus.
2. Nach der Freisetzung der Spermien gelangt es durch die T R A N S P O R T - F U N K T I O N der " R E S I D U A L B O D I E S " teilweise in die basalen Sertolizellanteile zurück und von dort in den " V O R R A T S P O O L " der Lamina propria.
3. Für den neuen Ablauf der Spermatogenese wird das Zink aus der Lamina propria in die Sertolizelle zurückgeholt.

Weitere Untersuchungen - sowohl histochemischer als auch biochemischer Art - müssen klären, welche weitere Bedeutung dem Zink im gesamten Hodengewebe zukommt.

ZUSAMMENFASSUNG

An nativen Kryostatserienschnitten von 30 Wistarrattenhoden wurden jeweils am ersten Schnitt einer Reihe die PJS-, am zweiten Schnitt die α-Glycerophosphatdehydrogenase-Reaktion durchgeführt. Am dritten Schnitt gelangte eine modifizierte histochemische Methode zur selektiven Darstellung von Zink zur Anwendung.

Die Befunde ergeben, daß sowohl das Enzym als auch das Zink ein stadienabhängiges Verhalten zeigen. Beim Enzym konnten damit Berichte aus der Literatur bestätigt werden; für das Zink wurde eine detailierte topogrphische Darstellung zum ersten Mal durchgeführt. Weiterhin wurde eine deutliche Korrelation zwischen Enzymverteilung der α-Glycerophosphatdehydrogenase und der Zinkverteilung nachgewiesen.

Daraus wurde eine Hypothese über das Verhalten des Zinks im Hoden während eines Spermatogenesezyklus abgeleitet:

1. Co-Enzymfunktion des Zinks zur Aktivierung der α-Glycerophosphatdehydrogenase und anderer Enzyme während der Spermatogenese.

2. Nach der Spermienfreisetzung Rücktransport des Zinks durch die "Residual bodies" in die basalen Sertolizellanteile (Zinc-Recycling) und Ablagerung im "Vorratspool" der Lamina propria, der vermutlich auch Zink über das Gefäßsystem zugeführt wird.
3. Wiedereintritt des Schwermetalls aus der Lamina propria in die Sertolizelle zu Beginn eines neuen Spermatogenesezyklus.

LITERATURVERZEICHNIS

Ambadkar, P.M., and George, J.C., Histochemical localization of certain oxidative enzymes in the rat testis. J. Histochem. Cytochem. 12, 587-590 (1964).

Aoki, A., and Hoffer, A.P. Reexamination of the lesions in rat testis caused by cadmium. Biol. Reprod. 18, 579-591 (1978).

Bargmann, W., Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 6. Aufl., Thieme, Stuttgart 1967.

Birnbaum, D., Hall, Th. and Lee, R., The zinc content of rat sperm cells from ejaculate, vas epididymis and testis. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 108, 321-324 (1961).

Böttger, P., Zinkbestimmung in menschlichem Sperma. Med. Welt 24, Heft 10, 374-376 (1973).

Boxer, G.E., and Shonk, E.C., Mitochondrial trioze phosphate izomerase. Biochem. biophys. Acta (Amst.) 37, 194-196 (1960).

Brunn, C.R., and Mastrone, G., In vivo interactions of cadmium, copper, zinc and iron in the mouse and rat. J. Nutr. 90, 395-399 (1966).

Chernoff, N., Teratogenic effects of cadmium in rats. Teratology, 8, 29-32 (1973).

Clegg, E.J., and Carr, I., Changes in the blood vessels of the rat testis and epididymis produced by cadmium chloride. J. Pathol. Bacteriol. 94, 317-322 (1967).

Clermont, Y., The cycle of the seminiferous epithelium in man. Am. J. Anat. 112, 35-51 (1963).

Clermont, Y., Renewal of spermatogonia in man. Am. J. Anat. 118, 509-524 (1966).

Clermont, Y., Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. Physiol. Rev. 52, 198-236 (1972).

Clermont, Y., and Bustos-Obregon, E., Re-examination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto". Am. J. Anat. 122, 237-247 (1968).

Dorrington, J.H., and Armstrong, D.T., Follicle-stimulating hormone stimulates oestradiol-17β-synthesis in culture of Sertoli cells. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 72, 2677-2681 (1975).

Eckhert, C.D., and Hurley, L.S., Reduced DNA synthesis in zinc deficiency: regional differences in embryonic rats. J. Nutr. 107, 855-861 (1977).

Eliasson, G., Hellinga, F., Lübcke, W., Meyhöfer, H., Niermann, O., Steeno, C. und Schirren, C., Empfehlung zur Nomenklatur in der Andrologie. Andrologie 2, 186 (1970).

Ferm, V.H., and Carpenter, S.J., Teratogenic effect of cadmium and its inhibition by zinc. Nature 216, 1123 (1967).

Fleischhauer, K., und Horstmann, E., Intravitale Dithizonfärbung homologer Felder der Ammonshornformation von Säugern. Z. Zellforsch. 46, 598-609 (1957).

Fox, M.R.S., and Fry, B.E.jr., Cadmium toxicity decreased by dietary ascorbic acid supplements. Science, 169, 989-991 (1970).

George, J.C., and Ambadkar, P.M., Histochemical demonstration of lipids and lipase activity in rat testis. J. Histochem. Cytochem. 11, 420-425 (1963).

Gunn, S.A., and Gould, T.C., Cadmium and other mineral elements.
In: The Testis. Vol. III (Eds. A.D. Johnson, W.R. Gomes and N.L. VanDemark) Academic Press, New York, 377-481 (1970).

Gunn, S.A., and Gould, T.C., Vasculature of the testes and adnexa (In: Handbook of Physiology, Vol. V) Male reproductive system. American Physiological Society, Washington 117-142 (1975).

Gunn, S.A., Gould, T.C., and Anderson, W.A., Zinc protection against cadmium injury to rat testis. Arch. Path. 71, 274-281 (1961).

Gunn, S.A., Gould, T.C., and Anderson, W.A., The selective injurious response of testicular and epididymal blood vessels to cadmium and its prevention by zinc. Amer. J. Path. 42, 685-702 (1963).

Gunn, S.A., Gould, T.C., and Anderson, W.A., Selectivity of organ response to cadmium injury and various protective measures. J. Path. Bacteriol. 96, 69-75 (1968).

Gunn, S.A., Gould, T.C., and Anderson, W.A., Specifity in protection against lethality and testicular toxicity from cadmium. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 128, 591-595 (1969).

Hilscher, W., Kinetik der Präspermatogenese und Spermatogenese. Verh. Anat. Ges. 68, 39-62 (1974).

Hilscher, W., und Hilscher, B., Autoradiographische Untersuchungen über die Kinetik der Spermatogenese der Wistarratte unter besonderer Berücksichtigung der Spermatocytogenese. Z. Zellforsch. 96, 625-640 (1969).

Hilscher, W., and Hilscher, B., Comparative studies on oogenesis and prespermatogenesis in the Wistar rat under normal and pathological conditions. Colloque sur l`ovogenêse et la folliculogenêse. Nouzilly, France, 14 et 15 dècembre 1972, a.

Hilscher, W., Hilscher, B., Gauss, G., Lippers, P., und Bülthoff, B., Untersuchungen zur Kinetik der Gonocyten und Stützzellen der Wistarratte unter normalen und pathologischen Bedingungen. Andrologie 4, 311 - 325 (1972), b.

Hilscher, B., Hilscher, W., und Passia, D., Histochemische Untersuchungen des Samenepithels der Ratte unter pathologischen Bedingungen. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung vom 17. - 18.2.1978 in Gießen.

Hilscher, B., Passia, D., and Hilscher, W., Kinetics of enzymatic pattern in the testis. I. Stage dependance of enzymatic activity and its relation to cellular interactions in the testis of the Wistar rat. andrologia 11, (3) 169-181 (1979).

Hirth, L., Enzymschäden bei Schwermetallvergiftung. Münch. Med. Wschr. 106, 985-988 (1964).

Holstein, A.F., and Roosen-Runge,L.E., Atlas of human spermatogenesis. Grosse-Verlag, Berlin 1981.

Horstmann, E., Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Spermiohistogenese beim Menschen. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat. 54, 68 (1961).

Hsu, J.M., and Antony, W.L., Effect of zinc deficiency and repletion on thymidine metabolism. Clin. Chem. 21, 544-550 (1975).

Huckins, C., The spermatogonial stem cell population in adult rats. I. Their morphology, proliferation and maturation. Anat. Record 169, 533-558 (1971).

Iwantscheff, G., Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro- und Spurenanalyse. (Hrsg. G. Iwantscheff) Weinheim, Bergstraße, Verlag Chemie GmbH, 1958.

Kimming, J., Steeno, D., und Schirren, C., Ergebnisse der modernen biochemischen Forschung auf dem Gebiet der Andrologie. Internist (Berlin) 8, 25 (1967).

Kornberg, A., and Pricer, W.E.jr., Enzymatic esterification of -glycerophosphate by long chain fatty acids. J. Biol. Chem. 204, 345-357 (1953).

Kozma, M., and Ferke, A., Trace elements localizations and changes in zinc and copper concentrations during postnatal development of the rat CNS. Acta histochem. 65, 219-227 (1979).

Kruczynski, D., Modifizierter Zinknachweis mit Dithizon am Testis und Pancreas als Referenzorgan (eine vergleichende histochemische Studie) Inaugural Diss. Uni. Düsseldorf (1984).

Kruczynski, D., Passia, D., Haider, S.G., and Glaßmeyer, M., Zinc transport through residual bodies in the rat testis; a histochemical study. andrologia, 17 (1) 98 - 103 (1985).

Kruczynski, D., Glaßmeyer, M., Passia, D., Haider, S.G., Berthold, G., Modifizierter histochemischer Zinknachweis im Testis. In: Fortschritte der Fertilitätsforschung; 12, Grosse-Verlag Berlin, 1984.

Lacy, D., Certain aspects of testis structure and function. Br. Med. Bull. 18, 205-208 (1962).

Leblond, C.P., and Clermont, Y., Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. Ann. N.Y. Acad. Sci. 55, 548-573 (1953).

Lehmann, V., und Brandau, H., Verteilungsmuster von Dehydrogenasen des Glucose- und Fructose-Stoffwechsels in Samenkanälchen des Rattenhodens. Acta histochem. 35, 18-27 (1970).

Ludvik, W., Andrologie. Hrsg.: W. Ludvik, Thieme-Verlag, Stuttgart 1976.

Maekawa, K., Tsunenari, K., Nokubi, K., and Waki, M., The earliest effect of cadmium on the testis; an increase of alkaline phosphatase activity in the capillary wall of the testicular interstitium. Acta. Anat. Nippon 40, 200-208 (1965).

Mager, M., Mc Nary, W.F., and Lionetti, F., Histochemical detection of zinc. J. Histochem. Cytochem. 1, 493-504 (1953).

Malmström, B., and Neilands, J.B., Metalloproteins. Ann. Rev. Biochem. 331-353 (1964).

Mann, T., The biochemistry of semen. Edit. Mann John Wiley & Sons New York 1954.

Maske, H., Wolff, H., Stampfl, B., und Baumgarten, F., Beobachtungen über den Zinkstoffwechsel beim Alloxandiabetes. Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 216, 457-472 (1952).

Mawson, C.A., and Fischer, M.I., Zinc and carbonic anhydrase in human semen. Biochem. J. 55, 696-700 (1953).

Mc Clean, D., and Rowlands, J.W., Role of hyaluronidase in fertilization. Nature 150, 627 (1942).

Mc Nary, W.F., Zinc-Dithizone reaction of pancreatic islets. J. Histochem. Cytochem. 2, 185-195 (1954).

Meek, E.S., Cellular changes induced by cadmium in mouse testis and liver. Br. J. Exp. Pathol. 40, 503-506 (1959).

Meissner, D., Martin, H., und Schmidt, L.H., Spurenelemente in der Medizin. Dtsch. Gesundh. Wes. 30, 1249-1253 (1975).

Mennesheimer, A.R., und Wulf, K., Zur Diagnostik und Therapie der männlichen Fertilitätsstörungen. Med. Welt 19, 72 (1968).

Midorikawa, O., und Eder, M., Vergleichende histochemische Untersuchungen über Zink im Darm. Histochemie 2, 444-472 (1962).

Mietkiewski, K., und Lukaszyk, A., Nachweis der -Glycerophosphatdehydrogenaseaktivität während der Spermiogenese im Rattenhoden. Histochemie 7, 28-38 (1966).

Millar, M.J., Fischer, M.I., Elcoate, P.V., and Mawson, C.A., The effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of male rats. Canad. J. Biochem. 36, 557-569 (1958).

Mutch, P.B., and Hurley, L.S., Effect of zinc deficiency during lactation on postnatal growth and development of rats. J. Nutr. 104, 828-842 (1974).

Niemi, M., and Kormano, M., Nucleoside diphosphatase activity of germ cells during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat testis. Exp. Cell. Res. 35, 197-200 (1964).

Niemi, M., and Kormano, M., Cyclical changes in and significance of lipids and acid phosphatase activity in the seminiferous tubules of the rat testis. Anat. Rec. 151, 159-170 (1965).

Parisi, A.F., and Vallee, B.L., Zinc metalloenzymes: Characteristics and significance in biology and medicine. Am. J. Clin. Nutr. 22, 1222-1239 (1969).

Parizek, J., The destructure effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc. J. Endocrinol. 15, 56-63 (1957).

Parizek, J., and Zoghar, Z., Effect of cadmium salts on testicular tissue. Nature 177, 1036-1037 (1956).

Parvinen, M., and Vanha-Perttula, T., Identification and enzyme quantitation of the stages of the seminiferous epithelial wave in the rat. Anat. Rec. 174, 435-450 (1972).

Parzyk, D.C., Shaw, S.M., Kessler, W.V., Vetter, R.J., Van Sickle, D.C., and Mayes, R.A., Fetal effects of cadmium in pregnant rats on normal and zinc deficient diets. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19, 206-214 (1978).

Passia, D., Enzymhistochemische Untersuchungen zur Orthologie und Pathologie des menschlichen Testisgewebes. Habilitationsschrift Med. Fak. Uni. Düsseldorf (1983).

Passia, D., Hilscher, B., Hilscher, W., und Goslar, H.G., Das Verhalten einiger Hydrolasen und Oxidoreduktasen während der verschiedenen Abschnitte der Spermatogenese der Ratte, Verh. Anat. Ges. 72, 533-535 (1978).

Passia, D., Hilscher, B., Hoffmann, K., Haider, S.G. und Hilscher, W., Histologische und enzymhistochemische Untersuchungen am Testis des Djungarischen Hamsters (Phodopus sungorus) unter Langtag- und Kurztagbedingungen. Verh. Anat. Ges. 76, 349-350 (1982).

Pearse, A.G.E., Histochemistry, Theoretical and Applied, Vol. 2, Churchill Livingstone, Edinburgh 1972.

Petkov, P., und Galabova, R., Zinkverteilung im Pankreas einiger Säuger. Acta histochem. 32, 93-109 (1969).

Pihl, E., Ultrastructural localization of heavy metals by a modified sulphide-silver-method. Histochemie 10, 126-139 (1967).

Prasad, A.S., Oberleas, D., and Miller, E.R., Biochemical effects of zinc deficiency: Changes in activities of zinc-dependant enzymes and ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid content of tissues. J. Lab. Clin. Med. 77, 142-152 (1971).

Romeis, B., Mikroskopische Technik. R. Oldenbourg Verlag, München, (1968).

Sanstead, H.H., Gillespie, D.D., and Brady, R.N., Zinc deficiency: Effect on brain of the suckling rat. Ped. Res. 6, 119-125 (1972).

Schaller, H.P., Histochemischer Schwermetallnachweis mit dem Sulfid-Silber-Verfahren an Hoden, Prostata und Darm der weißen Ratte in verschiedenen Altersstufen. Med. Diss. Halle, (1969).

Schirren, C., Umweltschäden und Fertilität des Mannes. Andrologie 5, 91 (1973).

Schirren, C., und Eweis, A., Akrosinaktivität und Trypsininhibitor im Ejakulat. Fortschr. Fertilitätsforschung II 3, 88 (1974).

Schmidt, R., und Rautschke, R., Die Dithizon-Zink-Reaktion in der Histochemie. Acta histochem. 15, 87-112 (1963 a).

Schmidt, R., und Rautschke, R., Die Lichtempfindlichkeit der Metall-Dithizonate. Acta histochem. 15, 359-372 (1963 b).

Schmidt, R., und Rautschke, R., Die Temperaturempfindlichkeit der Metall-Dithizonate bei verschiedenen Belichtungsverhältnissen (Dunkelheit, Tageslicht und UV-Bestrahlung). Acta histochem. 15, 373-385 (1963 c).

Schmidt, R., und Rautschke, R., Schwermetallkationen im tierischen Organismus; spektrographische Untersuchungen an Organen normaler und alloxanbehandelter weißer Ratten. Acta histochem. 17, 302-313 (1964 a).

Schmidt, R., und Rautschke, R., Der Zink- und Kupfergehalt verschiedener Organe der weißen Ratte; ein Beitrag zur Dithizon-Zink-Reaktion in der Histochemie. Acta histochem. 19, 1-13 (1964 b).

Schulz, G., Der histochemische Nachweis der Spurenelemente und einiger Schwermetallgifte in den Hoden der weißen Ratte. Inaug.-Diss. Göttingen, (1967).

Smith, G.L., Jenkins, R.A., and Gouch, J.F., A fluorescent method for the detection and localization of zinc in human granolocytes. J. Histochem. Cytochem. 17, 749-750 (1969).

Stampfl, B., Die intravitale histochemische Darstellung des Zinks durch Dithizon. Acta histochem. 8, 406-447 (1959).

Sumi, Y., Miyazaki, K., Tanaka, A., Muraki, T., and Suzuki, T., Differential staining of cadmium and zinc by thiazolylazophenols. Acta histochem. cytochem. 12, (5) 460-464 (1979).

Timm, F., Histochemische Lokalisation und Nachweis der Schwermetalle. Acta histochem. Suppl. 3, 142-158 (1963).

Timm, F., und Neth, R., Zur Histochemie der Langerhansschen Insel. Z. Naturforsch. 136, 539-542 (1958).

Timm, F., und Schulz, G., Hoden und Schwermetalle. Histochemie 7, 15-21 (1966).

Vallee, B.L., Biochemistry, physiology and pathology of zinc. Physiol. Rev. 39, 443-490 (1959).

Vallee, B.L., Zinc biochemistry: a perspective. Trends Biochem. Sci. 1, 88-91 (1976).

Vallee, B.L., and Gibson, J.G., II. An improved dithizone method for the demonstration of small quantities of zinc in blood and tissue samples. J. Biol. Chem. 176, 435-443 (1948 a).

Vallee, B.L., and Gibson, J.G., II. The zinc content of normal human whole blood, plasma, leucocytes and erythrocytes. J. Biol. Chem. 176, 445-457 (1948 b).

Vasterling, H.W., Praktische Spermatologie Hrsg.: H.W. Vasterling, Thieme-Verlag, Stuttgart 1960.

Venugopal, B., and Luckey, T.D., Toxicology of nonradioactive heavy metals and their salts. In: Heavy metal toxicity, safety and hormology. (Eds. Luckey, T.D., Venugopal, B. and Hutchinson, D.) Thieme, Stuttgart 4-73, 1975.

Voigt, G.E., Untersuchungen mit der Sulfid-Silber-Methode an menschlichen und tierischen Bauchspeicheldrüsen (unter Berücksichtigung des Diabetes mellitus und experimenteller Metallvergiftung). Virchows Arch. Path. Anat. 332, 295-323 (1959 a).

Voigt, G.E., Das histologische Bild der Langerhansschen Inseln nach Anwendung der Sulfid-Silber-Methode. Acta histochem. 8, 84-96 (1959 b).

Waites, G.M.H., and Setchell, B.P., Changes in blood flow and vascular permeability of the testis, epididymis and accessory reproductive organs of the rat after administration of cadmium chloride. J. Endocrinol. 34, 329-342 (1966).

Webb, M., Protection by zinc against cadmium toxicity. Biol. Pharmacol., 21, 2767-2771 (1972).

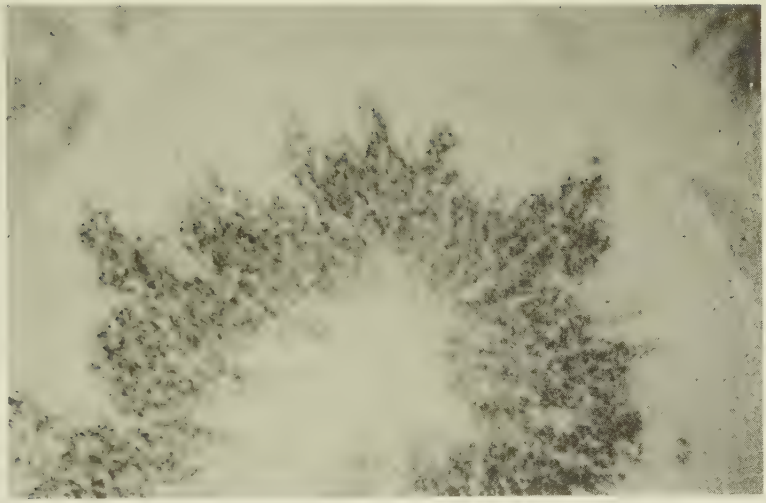
Weiss, S.B., Wagner - Smith, S. and Kennedy, E.P., Net synthesis of lecithin in an isolated enzyme system. Nature 178, 594-595 (1956).

Williams, R.B., and Mills, C.F., The experimental production of zinc deficiency in the rat. Brit. J. Nutr. 24, 989-1003 (1970).

Wolff, H., Die quantitative Bestimmung des Serumzinks mittels Dithizon. Biochem. Z. 320, 291-293 (1950).

Wolff, H., Maske, H., Stampfl, B., und Baumgarten, F., Untersuchungen über den Dithizondiabetes. Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 216, 440- 456 (1952).

Yoshinaga, T., Modified method of demonstration for zinc in tissues and its mode of existence. Acta histochem. 50, 273-277 (1974).

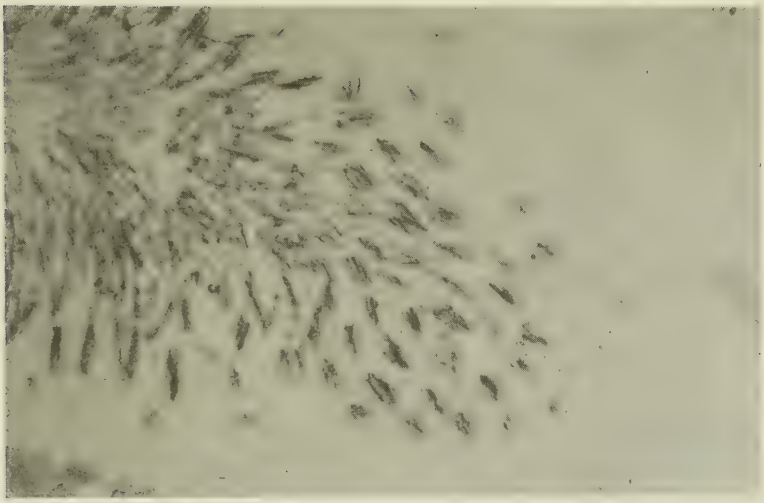


1

2

Abb. 1: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium I der Spermatogenese;
mäßige Ansammlung von Formazangranula
in den Spermienköpfen, den Mittelstücken
und den Schwanzbereichen; 360-fach.

Abb. 2: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium I der Spermatogenese;
positive schwache Zinkreaktionen im adluminalen
Tubulusanteil (Pfeil) und in der
Lamina propria (Pfeilkopf); 360-fach.

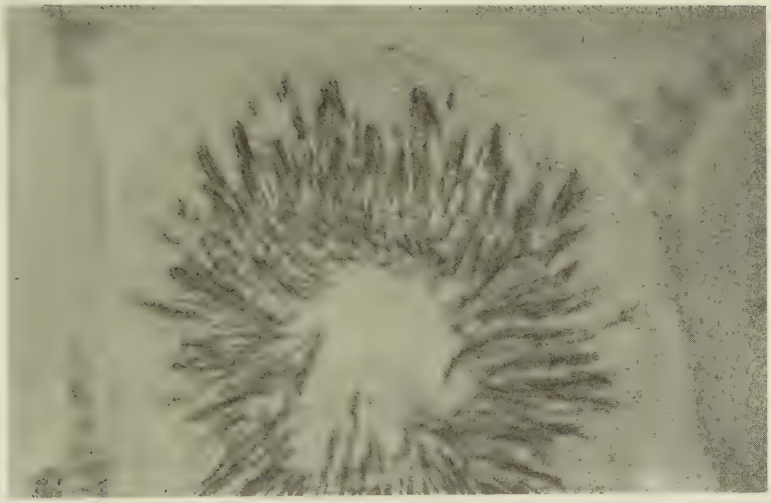


3

4

Abb. 3: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium III der Spermatogenese;
mäßige Enzymaktivität in den Köpfen
und den Mittelstücken der elongierten
Spermatiden; 360-fach.

Abb. 4: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium III der Spermatogenese;
das Zinkbild deckt sich mit der Lage
der Formazangranula. Beachte die
rot tigierten cytoplasmatischen
Auftreibungen (Pfeile); 360-fach.

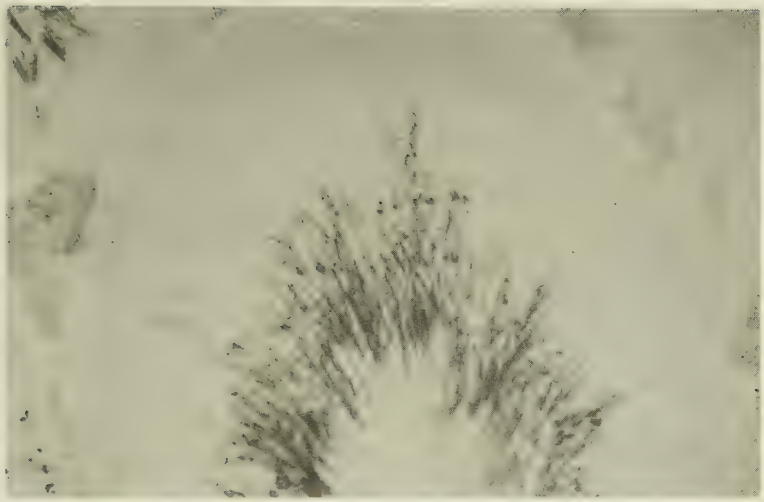


5

6

Abb. 5: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium V der Spermatogenese;
deutlich stärkere Reaktion in den Köpfen
und den Mittelstücken. Beachte auch hier
die cytoplasmatischen Auftreibungen (Pfeile);
360-fach.

Abb. 6: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium V der Spermatogenese;
deutliche Mengenzunahme der cytoplasmatischen
Auftreibungen im Vergleich zu Abb. 4; 360-fach.



7

8

Abb. 7: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium VI der Spermatogenese;
nur die Mittelstücke der Spermatozoen
zeigen eine stark aktive Enzymverteilung.
Beachte die Größenzunahme der cytoplasmatischen Auftreibungen im Vergleich zu Abb. 5
(Pfeile); 360-fach.

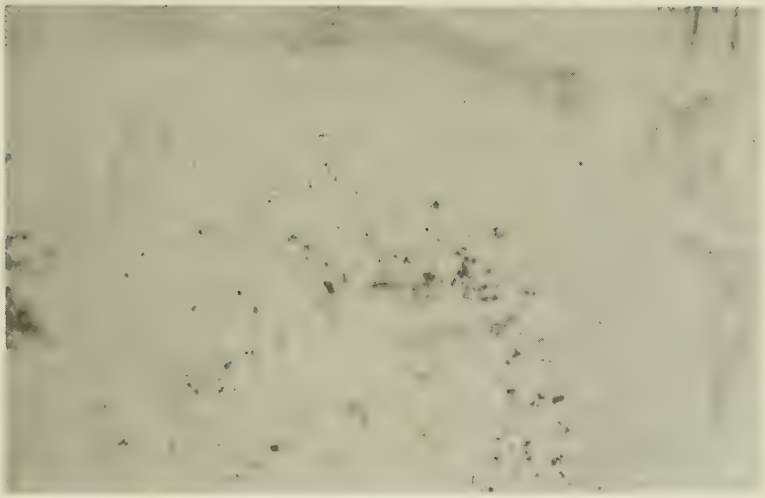
Abb. 8: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium VI der Spermatogenese; zur Enzymreaktion identische Lokalisation der Zinkreaktion
in den Mittelstücken der Spermatozoen.
Beachte auch hier die Größenzunahme der
cytoplasmatischen Auftreibungen im Vergleich
zu Abb. 6 (Pfeile); 360-fach.

9

10

Abb. 9: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium VII der Spermatogenese;
erstmaliges Auftreten freier Residual bodies
mit starker Enzymreaktion (Pfeile); 360-fach.

Abb.10: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium VII der Spermatogenese;
im Zinkbild imponieren die Residual bodies
als homogene, purpurrot gefärbte rundliche
Granula (Pfeile); 360-fach.



11

12

Abb.11: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium VIII der Spermatogenese;
die Spermien sind in das Lumen ausgetreten,
die Residual bodies wandern
successive vom adluminalen zum basalen
Tubulusanteil (Pfeile); 360-fach.

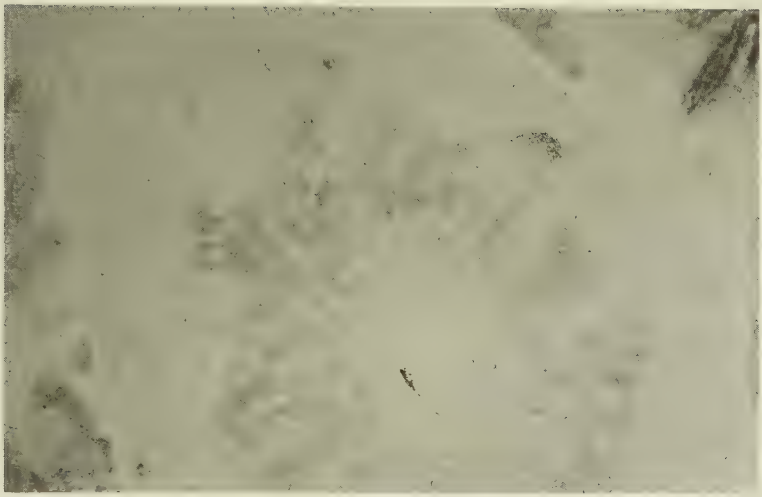
Abb.12: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium VIII der Spermatogenese;
wie auch schon die Enzymreaktion, ist auch
die Zinkreaktion vorwiegend im adluminalen
Tubulusanteil zu beobachten. Auch hier Beginn der Wanderung der Residual bodies zum
basalen Tubulusanteil (Pfeile); 360-fach.

13

14

Abb.13: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium XI der Spermatogenese;
die Formazangranula liegen diffus in den
aufgelockerten Strukturen des adluminalen
Tubulusbereiches; 360-fach.

Abb.14: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium XI der Spermatogenese;
deutlich positive Dithizongranula sind
nur in der Lamina propria zu erkennen;
360-fach.

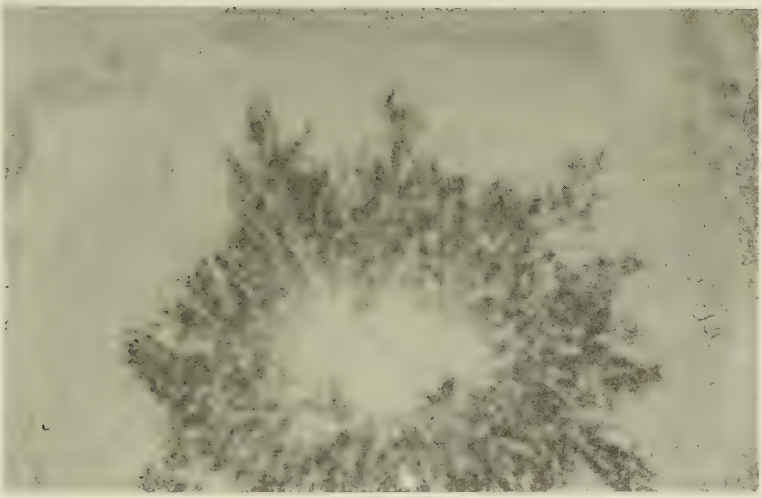


15

16

Abb.15: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium XII der Spermatogenese;
schwache Enzymaktivität der elongierten
Spermatiden; die Formazangranula sind
nicht eindeutig dem Kopf- oder Schwanzbereich zuzuordnen; 360-fach.

Abb.16: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium XII der Spermatogenese;
die Residual bodies liegen als vereinzelte,
rote Granula an der Lamina propria.
Beachte die Größenzunahme einzelner Residual
bodies im Vergleich zu Abb.14 (Pfeile); 360-fach.



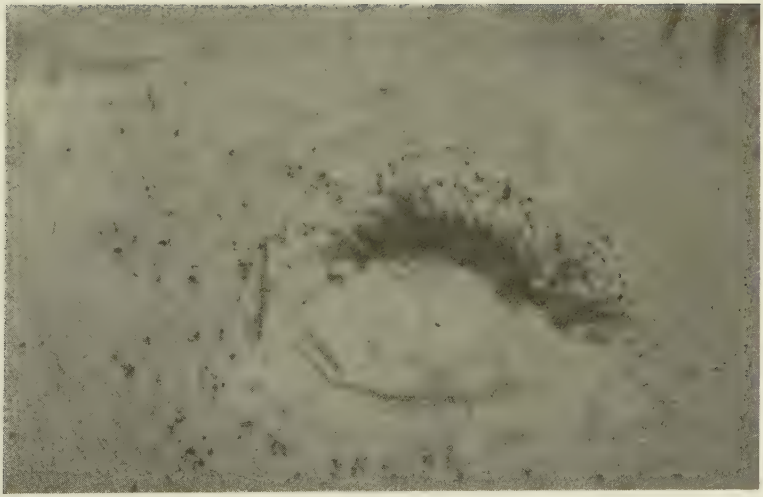
17

18

Abb.17: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium XIV der Spermatogenese;
deutliche Aktivitätssteigerung des Enzyms,
speziell im Vergleich zu Abb.15. Die Reaktion
ist den Mittelstücken und den Übergängen zu
den Flagella zuzuordnen; 360-fach.

Abb.18: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Stadium XIV der Spermatogenese;
sämtliche intratubulären Anteile zeigen
keine Zinkreaktion. Beachte die nur ganz
vereinzelt liegenden Residual bodies, die
in diesem Stadium auch deutlich in ihrer
Menge reduziert sind, besonders im Vergleich
zu den Abb.12 und 14; 360-fach.

19



20

Abb.19: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
Zinknachweis mit Dithizon
Übergang vom Stadium XIV zum Stadium I;
erneutes Auftreten schwach aktiver, diffus
verteilter Dithizongranula im basalen Tubu-
lusabschnitt sowie in der Lamina propria
(Pfeile); 360-fach.

Abb.20: Hoden, Ratte, 16 µm dicker Kryostatschnitt
α-Glycerophosphatdehydrogenase
Stadium VIII der Spermatogenese;
diese Abbildung zeigt genau den Augenblick,
in dem die Spermien den Kontakt zur Sertoli-
zelle verlieren und in das Lumen abgegeben
werden. Beachte auch die deutlich sichtbare
Wanderung der Residual bodies (Pfeile); 360-fach.

Lebenslauf

Name	:	Glaßmeyer
Vorname	:	Aloysius Michael
Geburtsdatum	:	22. Sept. 1959
Geburtsort	:	Ibbenbüren in Westf.
Konfession	:	röm. kath.
Familienstand	:	ledig
Vater	:	Glaßmeyer, Gerhard
Mutter	:	Glaßmeyer, Margret geb. Fuchs-Beckmann
Schulen	:	Grundschule Ibbenbüren-Laggenbeck 1965-1969
		Goethe-Gymnasium Ibbenbüren 1969-1979
Studium	:	4 vorklin. Semester Universität
		Düsseldorf 1979-1981
		8 klin. Semester Universität Köln
		1981-1985 incl. PJ
Sonstiges	:	Beginn der Dissertation 1982 -
		Abschluß 1985

Druck: Driemeier · Ibbenbüren